

腎移植領域における分子標的薬

原田 浩, 福澤 信之

要 旨

分子生物学の進歩により腫瘍免疫、自己免疫、さらには同種移植免疫応答における分子レベルのメカニズムが解明され、作用分子に特異的に作用するいわゆる分子標的薬の開発が相次いでいる。同種臓器移植においては、拒絶反応発生を制御する免疫抑制剤においてその恩恵がある。従来はカルシニューリン阻害剤であるシクロスポリンやタクロリムス、代謝拮抗剤であるセルセプト、さらにステロイドの薬剤の組みあわせが、標準的な導入免疫抑制剤であったが、これに抗CD25モノクローナル抗体であるバシリキシマブや、抗CD20モノクローナル抗体であるリツキシマブが併用され、より有効な拒絶反応阻害や、抗ドナー既存抗体を有する症例への適応拡大に寄与している。また最近保険適応となった、mTOR阻害剤であるエベロリムスもその多様な効果が期待されている。本稿では、腎移植における分子標的薬につき、最近の治験およびその使用法の実際を述べる。

キーワード：腎移植、免疫抑制剤、分子標的薬

結 言

分子標的薬という言葉には種々の定義があるが、一般に細胞表面、細胞内の標的分子に特定に作用する薬剤を意味する。もちろん多くの薬剤には標的部位が存在するが、発見の段階では、その正確な作用機序が不明であったものが、後日の解析にて判明しているものもある。この点、創薬の段階から特定の分子を標的に開発された薬剤を分子標的薬に分類することが一般的である。モノクローナル抗体および小分子化合物の開発に端を発し、特に癌治療の領域および、リウマチなどのアレルギー疾患領域において、近年種々の分子標的薬が臨床応用されている。

移植領域においては、同種免疫反応を抑制する薬剤、すなわち免疫抑制剤が主体であるが、自己

免疫反応を制御するアレルギー疾患領域に用いられる分子標的薬に共通するところも多いものの、実際に保険適応となっている薬剤は後述の抗CD25モノクローナル抗体のみである。近年保険適応となったエベロリムスは細胞内の小分子mTORを阻害する薬剤であり、その意味では分子標的薬とも言えなくもないが、その発見は古い。腎移植の発展を支えているシクロスポリンやタクロリムスは細胞内カルシニューリンを阻害するものの、分子標的薬に分類されることはないことから、エベロリムスのみを分子標的薬とすることには違和感を覚える。しかし、エベロリムスは実際抗腫瘍効果も有し、腎癌の抗腫瘍薬としても認可されている同薬剤は腎癌治療薬の領域では、他のmTOR阻害剤とともに分子標的薬に位置づけられている。このように、分子標的薬の定義自体が、混沌としているために、明解な分類は不可能であり、保険適応薬もほとんどないのが実情であるが、

腎移植の免疫抑制剤の作用機序、実際の免疫抑制剤、また健康保険には収載されていない薬剤も含め当科での使用の実際を含め概説する。

同種臓器移植における免疫反応

同種臓器移植においては、異なる主要組織適合性抗原 (major histocompatibility complex : MHC)、ヒトではHLA (human leukocyte antigen) を持つ同種移植片が宿主体内に移植された際に、同種免疫システムによる排除としての反応が、移植片拒絶反応である。その応答の始まりとして、移植片中に存在するドナー由来の樹状細胞などの抗原提示細胞が宿主T細胞へ直接抗原提示を行うdirect pathwayが重要なステップを担う。またさらに宿主抗原提示細胞が処理し、宿主HLA-TCR複合体上に提示したドナーHLA断片が認識され、T細胞に認識されるindirect pathwayも存在する。いずれにせよ、ドナーHLAは認識され、T細胞関連型拒絶反応の攻撃の対象となる¹⁾。なお、TCR-HLA複合体からのシグナル

(シグナル1) のみでは、T細胞活性化は不十分で、ありCD80、86からCD28に代表される副刺激 (シグナル2) の共存が必要である。シグナル2の欠如は抗原特異的アナジーに陥ることが知られている。さらに、シグナル2の活性化によりIL-2などのサイトカインが分泌され、IL-2受容体からのシグナル (シグナル3) を受けたT細胞は細胞内mTORを介し、細胞内周期が回転し、増殖することとなる (Fig. 1)²⁾。

一方B細胞はT細胞と協調し主にドナーHLAに対する抗体を産生し、抗体関連型拒絶反応の主体をなす (Fig. 2)。通常の状態であればアロ抗HLAに対する抗体は存在しないが、輸血、妊娠、先行する臓器移植、組織移植により、感作された宿主はアロ抗HLA抗体を産生し、抗体関連拒絶反応を惹起する。また、自然抗体である、抗ABO血液型抗体は、近年増加しているABO不適合移植においては、移植前に低下させる必要があり、その脱感作の際にB細胞系リンパ球の抑制が必要となる^{3, 4)}。

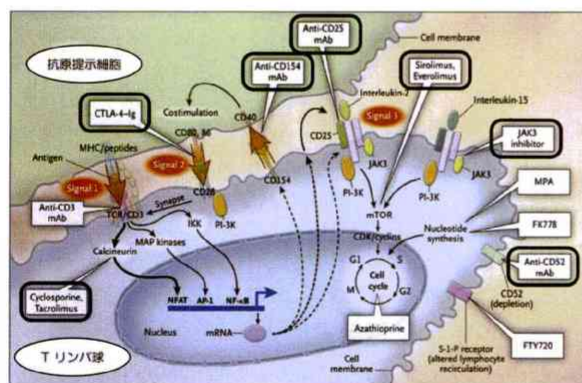


Fig. 1 抗原提示細胞からTリンパ球へのシグナル伝達
TCR/CD3複合体からの信号 (Signal 1) のみでは、リンパ球は活性化されず、CD28/CD80、CD86に代表される副刺激シグナル (Signal 2) が必要である。この結果IL-2などのサイトカインが分泌され、Tリンパ球表面上のIL-2レセプターにこのシグナルが伝達されることにより (Signal 3) リンパ球は分裂増殖を繰り返す。この過程の様々な分子を阻害する薬剤が開発されている。(枠内の薬剤が本稿で触れたもの) (文献2より引用、一部改変)

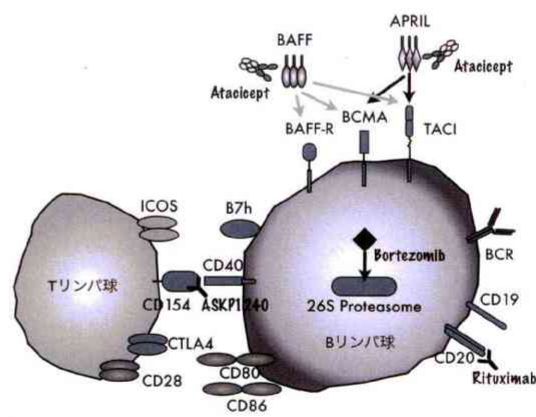


Fig. 2 Tリンパ球-Bリンパ球相互作用
B細胞レセプターによりBリンパ球に取り込まれた抗原をMHC class IIにより提示し、T細胞ヘルプを経て、Bリンパ球が活性化される。Bリンパ球との着着によりT細胞のCD154分子からCD40分子へのシグナルにより CD80/86が表面発現し、CD28シグナルを介する副刺激によりT細胞は活性化される。B細胞の活性化因子であるBAFFやAPRILは細胞表面上のBAFFやBCMA、TACIよりシグナルを入れ、Bリンパ球は活性化される。AtaciceptはBAFF、APRILに付着しその着着を阻害する。またASKP1240は抗CD154抗体であり、霊長類での研究実績がある。Bortezomibはproteasomeを阻害する。BAFF : B-cell activating factors、APRIL : a proliferation-inducing ligand、BCMA : B-cell maturation protein、TACI : transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor。(文献9より引用、一部改変)

腎移植領域における分子標的薬

抗CD25抗体

抗CD25抗体は、活性化T細胞表面に発現するIL-2受容体 α 鎖（CD25）に対して特異的な親和性を有し、IL-2のIL-2受容体への結合を阻害し、その結果、IL-2受容体を介したT細胞の活性化及び増殖を抑制し、腎移植後に発現する急性拒絶反応が抑制される。なお、本邦ではバシリキシマブが保険適応となっており、成人では20mgを移植直後および、移植4日目に投与する。バシリキシマブは、マウスモノクローナル抗体であるRFT-5を基に、ヒトにおける異種抗原に対する免疫原性を減弱させた、ヒト/マウス キメラ型モノクローナル抗体である。異種抗原性は残存するため、アナフィラキシー反応に注意が必要である⁵⁾。

抗CD20抗体

ヒト-マウスキメラ化抗CD20抗体であるリツキシマブは従来B細胞性悪性リンパ腫治療薬として使用されていた。CD20抗原は健常陽性B細胞にも発現しているため、臓器移植の場合でも抗体産生細胞であるB細胞除去のため移植前に使用されている。CD20抗原を有するB細胞は、補体依存性細胞障害活性や抗体依存性細胞傷害を介し除去される。悪性リンパ腫の治療量である $375\text{mg}/\text{mm}^2$ を5日も使用する必要はなく、最低 $50\text{mg}/\text{mm}^2$ を1回あるいは2回使用することで、約1年以上に渡りB細胞は末梢血から除去される⁶⁾。当科では最近100mg/bodyを8日前のみ、あるいは移植前日にも追加投与している。なお形質細胞に分化した後は細胞表面上のCD20は消失するために形質細胞は除去されない。このため、より強力な抗体産生抑制が必要となる既存抗HLA抗体陽性腎移植の場合にはプロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブ（後述）が使用される場合がある⁷⁾。両者とも腎移植医療においては保険点数が収載となっておらず、早期の承認が望まれる。

mTOR阻害剤

1965年に発見された抗生物質であるラパマイシンは、その後の解析で、細胞内結合蛋白であるFKBP12（FK-506 binding protein-12）と結合

して複合体を形成し、さらにこの複合体は細胞周期のG1期からS期への誘導に関与する主要な調節蛋白であるmTOR（mammalian target of rapamycin）に結合してその機能を阻害することにより、細胞の増殖を抑制することが明らかにされた。免疫抑制作用を発現する一方、樹状細胞やマクロファージなどの自然免疫細胞の作用を介し、獲得免疫も調整している。細胞内のカルシニューリンを阻害するカルシニューリン阻害剤に比べ、mTOR阻害剤は、腎毒性が少ない点、免疫抑制作用のほか、抗ウイルス、抗腫瘍効果、抗線維化効果などにも目が向けられている。冠動脈の薬剤溶出性ステントはラパマイシンの放出により拡張後再狭窄の抑制効果があり、ラパマイシンの誘導体であるエベロリムスも、抗腫瘍効果を利用して、腎癌の治療薬として利用されている。本邦では最近心移植に加え、腎移植での保険適応が追加された⁸⁾。

なお、前述のように、mTOR阻害剤は創薬の段階からその作用が判明していたものではなく、この点、臓器移植の主流の免疫抑制剤であるサイクロスポリンや、タクロリムスも、当初抗生物質として発見され、後に、細胞内のカルシニューリンを阻害する薬剤であることが判明した薬剤であり、これらは、分子標的薬とは分類されないことを考えると、mTOR阻害剤を分子標的薬に分類することには違和感を覚えるが、抗腫瘍薬の領域ではmTOR阻害剤は分子標的薬の代表として位置づけられている。もともと、抗腫瘍薬は殺細胞性の薬剤が代表であったために、これに対する呼称として、最近の分子標的薬を対比させていることに起因すると思われる。その意味では、古典的な免疫抑制剤であるステロイド剤や、細胞周期を止める代謝拮抗剤アザチオプリンとの対比で、カルシニューリン阻害剤も含め分子標的薬と位置づけても良いのかもしれない。

本邦でも移植領域で期待される薬剤

近年の分子生物学の発達は同種免疫のメカニズムの解明が分子レベルでなされ、またモノクローナル抗体の作成、発達技術の進歩、細胞内シグナルの解明はおびただしい数の分子標的薬が誕生している。臨床応用されていないものや、欧米で臨床

治験に入ったもの、認可がされたものもあるが、本邦でもやがて、使用が期待される薬剤につき述べる。

1. CTLA4-Ig (ベラタセプト)

シグナル1のみではT細胞の活性化は不十分であり、CD28などの副刺激分子からの共刺激（シグナル2）が重要であることは述べた。CTLA4はCD28に対するCD80/86の共有リガンドであり、T細胞に誘導され、負のシグナルを伝達する分子であり、正のシグナルを伝達するCD80/86の20倍強の親和性を持つ。この細胞外ドメインに免疫グロブリンのFc領域を遺伝子工学的に付着し、遊離体とした分子標的薬である。リウマチ領域ではアバタセプトというCTLA4-Igの臨床治験が行われたが、ベラタセプトはよりCD80/86への親和性を高め、より強力に作用する。すでに米国でFDAに認可されている。移植後拒絶反応の発生率、移植腎機能においてシクロスポリンより利点があるとされている。ただ、移植後リンパ球増殖症、特に中枢神経への発症が多いことが判明されている。現在のところ、静脈への投与経路しかないことも問題である^{9, 10)}。

2. 抗CD52モノクローナル抗体 (アレムツマブ、Campath-1H)

Tリンパ球、Bリンパ球や、単球、マクロファージ表面に発現する表面マーカーであるCD52に対する抗体として開発されたラットIgG2b抗体であるCampath-1Gの超可変領域を、ヒトIgG1骨格に導入したものがヒト化Campath-1Gである。この重鎖可変領域ドメインのアミノ酸置換によりアフィニティーを改善したものがアレムツマブ (Campath-1H) である。CDC、ADCCによりTリンパ球、Bリンパ球が減少する。早期ステロイド離脱のための導入併用薬剤として期待され、低リスクの腎移植では、バシリキシマブやサイモグロブリンよりも急性拒絶反応の抑制効果において優位性が証明されている¹¹⁾。

3. プロテアソーム阻害剤 (ボルテゾミブ)

ボルテゾミブは多発性骨髄腫治療への使用がすでに認可されている、プロテアソーム阻害剤である。Bリンパ球の表面マーカーであるCD20は幹

細胞から活性化Bリンパ球にまで広く発現しているが、形質細胞に分化後はその発現を消失する。よって抗CD20抗体であるリツキシマブは、CD20⁺CD138⁺形質細胞への効果はないために⁶⁾、リツキシマブのみでは抗体産生抑制効果が不十分な、強度の抗ドナーHLA抗体を有する腎移植での脱感作療法、あるいは治療抵抗性の抗体関連拒絶反応の治療で使用され、有用性が示されている。本邦でも、臓器移植領域での保険適応が待たれる^{9, 12)}。

4. 抗C5抗体 (エクリズマブ)

同種抗体の存在は、血管内皮への障害から、移植腎局所の血栓形成が行われ、臓器の障害へと至る。この経路を担う終末補体蛋白C5の抗体がエクリズマブで、抗体関連拒絶反応や、溶血性尿毒症症候群発症例での治療手段として期待される^{9, 12)}。本邦においても発作性夜間血色素尿症に保険が適応となっている。

5. TACI-Ig (アタシセプト)

前述のように、CD20抗体はこれを持たない形質細胞には無効であり、同種抗体の制御には他の薬剤が必要である。BAFF (B-cell activating factors) や、APRIL (a proliferation-inducing ligand) と呼ばれるTNFファミリーリガンドはB細胞の成熟に必要な抗アポトーシス因子であり、B細胞のBAFF-receptor, BCMA (B-cell maturation protein)、TACI (transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor) に作用する。アタシセプトはTACIにIgを接合させた融合蛋白でBAFF、APRIL リガンドに作用し、Bリンパ球の成熟を阻害する (Fig. 2)。抗体関連拒絶反応の制御、抗体陽性移植前の脱感作療法での使用が期待されるが、まだ臨床応用はされていない⁹⁾。

6. その他の薬剤

細胞内Jak阻害剤 (トファシチニブ) は本邦ではリウマチ関節炎に適応申請中である薬剤でIL-2, 4, 7, 9, 15, 21の産生を抑制する。これにより、Tリンパ球、Bリンパ球、NK細胞が抑制され、臓器移植拒絶反応の抑制に期待が持たれる¹³⁾。PKC阻害剤 (ソトラスタウリン) などの細胞内

シグナル阻害剤¹⁴⁾、また副刺激分子であるCD40-CD154の経路を阻害する抗CD40抗体(ASKP1240)¹⁵⁾などの他、数々の分子標的薬が開発され、長年での研究が成されている。

分子標的薬を利用した実際の腎移植プロトコール

免疫抑制剤は、単独で使用されことはほとんどなく、複数の薬剤と組みあわせて使用される。これまで紹介した薬剤も、すでに使用されているステロイド剤、代謝拮抗剤、カルシニューリン阻害剤と併用される。より適正な免疫抑制を、有害事象発生をより少なくするためである。多岐にわたるステロイドの有害事象回避するための、ステロイド離脱プロトコールは各施設で試みられるようになってきており、併用薬も様々である^{8, 9, 16)}。また、カルシニューリン阻害剤は強力なTリンパ球抑制効果があるものの、その腎毒性は、長期の移植腎生着を期待する上では、有害となる。よってそれらを減量する、あるいは早期に使用を回避するプロトコールも試みられている。ここでは当科での腎移植導入免疫抑制プロトコールを紹介する。

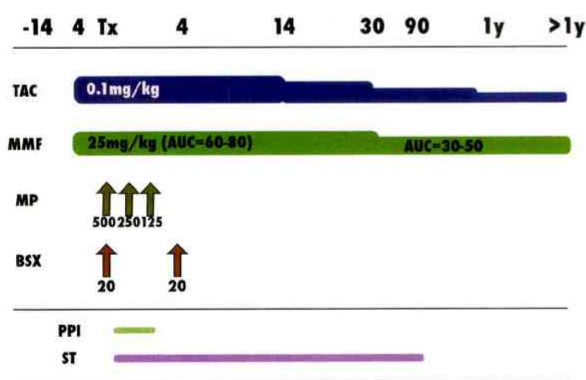


Fig. 3 当科における早期ステロイド離脱プロトコール
ステロイドの長期投与による有害事象の回避の目的で、2006年から使用している。通常の低リスク腎移植に積極的に用いている。ステロイドは移植後3日のみの投与で終了する。導入はbasiliximabを含め4剤であるが、維持期は2剤である。TAC：タクロリムス、MMF：ミコフェノール酸モフェティル、MP：メチルプレドニゾロン、BSX：basiliximab、PPI：プロトンポンプ阻害剤、ST：ST合剤。

1. ステロイド短期離脱プロトコール

低リスク症例に対しては、抗CD25抗体であるバシリキシマブにタクロリムス、ミコフェノール酸モフェティルを加え、ステロイドは移植当日から3日間で終了するプロトコールである。ステロイドを持続使用するプロトコールと比較し、拒絶反応発生頻度、移植腎の短期生着率に差を認めていない (Fig. 3)¹⁶⁾。

2. ハイリスク症例に対するプロトコール

ABO血液型不適合の場合や、既存の抗HLA抗体を有する場合には、抗CD20抗体であるリツキシマブ100mg/bodyを8日前のみ、また、症例に応じては移植前日にも追加投与をしている。バシリキシマブは上記同様に使用し、ステロイドは持続で使用する。もちろん、タクロリムスおよびミコフェノール酸モフェティルは使用する⁶⁾ (Fig. 4)。

3. mTOR阻害剤を併用した最近のプロトコール

シクロスポリン、タクロリムスは臓器移植の成績を飛躍的に向上させ、移植数の増加に寄与しているが、腎毒性が問題となり、長期の生着率は必ずしも向上していない。また当科の上記1. のス

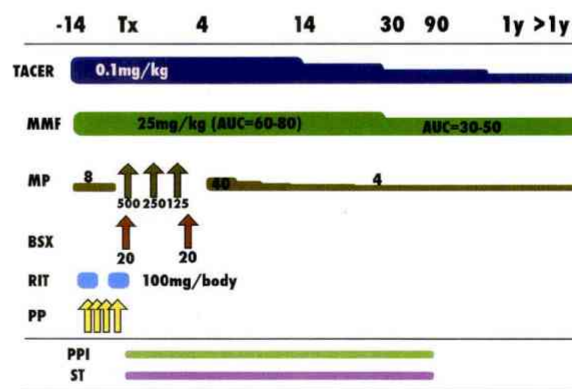


Fig. 4 当科におけるハイリスク腎移植プロトコール
抗ドナーHLA抗体を有する場合あるいはABO血液型不適合移植のような高リスク腎移植に用いている。ステロイドは基本的に持続する。導入はbasiliximabをのほか、rituximabを使用する。症例に応じて、rituximabの投与回数を調節している。この他2-4回の血漿交換を併用する。また、強度の抗体を有する場合は免疫抑制剤の開始を4週間前としている。TAC：タクロリムス、MMF：ミコフェノール酸モフェティル、EVR：エベロリムス、MP：メチルプレドニゾロン、BSX：basiliximab、PPI：プロトンポンプ阻害剤、ST：ST合剤。

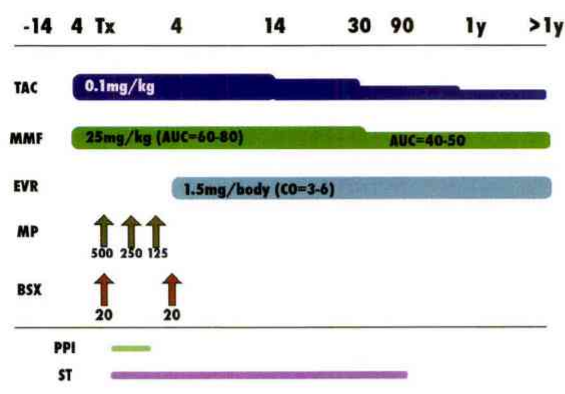


Fig. 5 当科におけるエベロリムス併用プロトコール
近年開始したプロトコールである。基本的にFig. 3のステロイド早期離脱プロトコールに4日目よりエベロリムスを加えている。タクロリムスの投与量を減弱でき、長期の腎毒性の軽減を目指している。TAC：タクロリムス、MMF：ミコフェノール酸モフェチル、MP:メチルプレドニゾロン、BSX：basiliximab、PPI：プロトンポンプ阻害剤、ST：ST合剤。

テロイド短期離脱プロトコールは臨床的な成績は差がないものの、定期プロトコール腎生検での線維化がより強い傾向があった¹⁶⁾。これを解消すべく、上記1. にエベロリムスを4日目から加え、カルシニューリン阻害剤の目標量も3割削減することにより、長期の腎毒性の軽減と、移植腎の線維化の抑制、また併発するウィルス感染症や、腫瘍の発生を抑制することが期待される (Fig. 5)。

おわりに

腎移植における分子標的薬の紹介および、それらを用いた腎移植導入プロトコールにつき紹介した。これらにも、欧米で認可されている分子標的薬は増加しており、技術革新により拒絶反応に関与する責任分子の同定およびそれに作用する分子標的薬のさらなる開発によって、より臓器移植の成績向上が期待される。

参考文献

- 1) 原田浩：【拒絶反応の診断と治療】 拒絶反応のメカニズムT-cell-mediated rejection. 腎移植・血管外科 2008；19(2)：104-112.
- 2) Halloran PF: Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. New Engl J

Med 2004；351(26)：2715-2729.

- 3) 大段秀樹：【拒絶反応の診断と治療】 拒絶反応のメカニズムAntibody-mediated rejection. 腎移植・血管外科 2008；19(2)：113-119.
- 4) 原田浩：【先進医療への取り組みの現状】 腎移植における抗ドナーHLA抗体の意義とその克服. 札幌誌 2008；68(1)：27-33.
- 5) 原田浩：【腎移植を考える】 腎移植における免疫抑制薬（最近の話題を含めて）. Nephrology Frontier 2006；5(1)：30-35.
- 6) 原田浩，三浦正義，関利盛・他： 腎移植におけるリツキシマブの使用経験. 今日の移植 2006；19(4)：463-467.
- 7) Lemy A, Toungouz M, Abramowicz D. et al: a new player in pre- and post-transplant desensitization? Nephrol Dial Transplant 2010；25(11)：3480-3489.
- 8) Campistol JM, de Fijter JW, Nashan B, et al: Everolimus and long-term outcomes in renal transplantation. Transplantation 2011；92(3 Suppl)：S3-26.
- 9) Webber A, Hirose R, Vincenti F. Novel strategies in immunosuppression: issues in perspective. Transplantation 2011；91(10)：1057-1064.
- 10) Vincenti F, Larsen CP, Alberu J, et al: Three-year outcomes from BENEFIT, a randomized, active-controlled, parallel-group study in adult kidney transplant recipients. American journal of transplantation 2012；12(1)：210-217.
- 11) Hanaway MJ, Woodle ES, Mulgaonkar S, et al: Alemtuzumab induction in renal transplantation. New Engl J Med 2011；364(20)：1909-1919.
- 12) Kaneku H. Annual literature review of donor-specific HLA antibodies after organ transplantation. Clin Transplant 2011；311-318.
- 13) Vincenti F, Tedesco Silva H, Busque S, et al: Randomized Phase 2b Trial of Tofacitinib (CP-690,550) in De Novo Kidney Transplant Patients: Efficacy, Renal Function and Safety at 1 Year. Am

- J Transplant 2012. Epub 2012/06/12.
- 14) Bigaud M, Wiecek G, Beerli C, et al: Sotrastaurin (AEB071) alone and in combination with cyclosporine A prolongs survival times of non-human primate recipients of life-supporting kidney allografts. Transplantation 2012 ; 93(2) : 156-164.
- 15) Oura T, Yamashita K, Suzuki T, et al: Long-Term Hepatic Allograft Acceptance Based on CD40 Blockade by ASKP1240 in Nonhuman Primates. Am J Transplant 2012 ; 12(7) : 1740-1754.
- 16) Miura M, Ogawa Y, Kubota KC, et al: Clinicopathologic evaluation of short-term outcome after early corticosteroid discontinuation in kidney transplantation. Clin Transplant 2009 ; 23 (Suppl 20) : 10-16.

Molecular targeting agents in kidney transplantation

Hiroshi Harada, Nobuyuki Fukuzawa

Department of Kidney Transplant Surgery, Sapporo City General Hospital

Summary

The development of molecular biology has been elucidating the mechanism of tumor immunity, autoimmunity and allogeneic organ transplant immunology, and this has resulted in the production of numerous agents which target specific molecules. This has facilitated the generation of many immunosuppressants in the organ transplant field. Monoclonal antibodies (mAb), such as anti-CD25 mAb basiliximab and anti-CD20 mAb can reduce the incidence of acute rejection and widen indication of transplantation, even if recipients possess donor specific alloantibodies like anti-ABO blood type antibody or anti-HLA antibody by adding on conventional immunosuppression regimens consisting of calcineurin inhibitor, antimetabolite and corticosteroid. Everolimus, which has recently been approved, is expected to act as a new immunosuppressant by means of not only regulating T cell development but also demonstrating extra-immunosuppressive effects, such as anti-tumor, anti-viral and anti-fibrotic characteristics. We discuss and introduce recent molecular targeting agents in the transplant field.